

## Talajmikroorganizmusok antibiotikum érzékenysége I.

### Antibiotikumok hatása a kitinbontó talajmikroorganizmusok növekedésére és kitinbontó tevékenységére

KECSKÉS MIHÁLY

MTA Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézet, Budapest

A talajban és a magasabbrendű növények rhizoszferájában élő mikroorganizmusok között bonyolult kölcsönkapcsolat van. Ebben a kölcsönviszonyban a mikrobák által kiválasztott antibiotikus anyagoknak is jelentős szerep jut. A kitinbontó mikroszervezetek élettani kutatásával foglalkozó irodalmat áttanulmányozva (Benecke [1] 1905-ben megjelent első idevonatkozó munkájától 1960-ig: Kopp és Makrianovics [21], Jeuniaux [10, 11, 12, 13, 14], Jeuniaux és Amanieu [15], Campbell és Williams [3], Veldkamp [32, 33], Gehring [5, 6], Reynolds [23], Sreenivasan [24], Tracey [26] és más munkái, Clarke és Tracey [4], Huber [9]), a legutóbbi évtizedben megjelent értekezések között is mindössze Veldkampnál [33] találunk utalást a kitinbontó mikroszervezetek antibioziséval kapcsolatban. Veldkamp — egyéb eredmények mellett — adatokat közölt arra vonatkozóan is, hogy relatíve száraz talajokban (istállótrágyával kezelt agyag és homok talajokban) a kitinadagolás után nemsokára mind a kitinbontó, mind a „total” mikroflóra nagy részét a sugárgombák képezték — lemez tesztben vizsgálva az *Actinomyces*-k nagy száma a *Bac. subtilis*-sel szemben antagonistának mutatkozott, ugyanakkor a *Pseudomonas chitinovorans*-sal és a kitint nem bontó *Escherichia coli*-val szemben csak némelyik sugárgomba fejtett ki enyhe gátlást.

Véleményünk szerint a közeljövő fontos feladata lenne a talajban élő kitinbontó mikroszervezetek fiziológiai kutatásába fokozottabban bevonni a talaj biotikus és abiotikus tényezőinek a vizsgálatát is. Munkánkban ezt a célt szem előtt tartva kíséreltük meg tanulmányozni különböző baktériumok és sugárgombák viselkedését tiszta antibiotikumokkal szemben.

#### Anyag és módszer

A tanulmányozott 14 mikroorganizmus közül 5 pálcika alakú baktériumot (amelyek részletes vizsgálatára vonatkozó adatokat másutt közöljük Kecs-kés [18]) és egy sugárgomba speciést izoláltunk kitin táptalajon az alábbi helyekről.

C<sub>5</sub>: erdőtalaj (Sopron, Szárhalmi erdő).

C<sub>7</sub>, C<sub>8</sub>: Kerti talaj (Sopron, Erdőmérnöki Főiskola Botanikus kertje).

C<sub>10</sub>: Szántóföldi talaj (Soproni-Nyugatmajor).

Ar<sub>5</sub>: Akác (*Robinia pseudoacacia*) rhizoszferájából (Kecs-kés [16]).

*Streptomyces* sp (cs 37): kerti talajból (Sopron, Erdőmérnöki Főiskola Botanikus kertje).

A többi 8 törzs a következő helyekről származik:

Cr<sub>4</sub>, Cr<sub>6</sub>, Cr<sub>15</sub> (pálcika alakú baktériumok): cukorrépa (*Beta vulgaris saccharifera*) rhizoszferájából izolálta: Gyurkó [7, 8].

*Streptomyces antibioticus* Z-5.

*Streptomyces lavendulae* Waksman.

*Actinomyces subtropicus* 33-II. 113. Hajdúsági Gyógyszergyár Törzsgyűjteménye, Debrecen.

*Streptomyces griseus* (Krainsky emend Waksman és munkatársai). Waksman és munkatársai; szikes (szolonyec) talajból izolálták: Szabó és Marton [25].

*Streptomyces* sp.: soproni szántóföldi talajból izolálta: Szegi.

Valamennyi mikroorganizmus jól növekedik és aktívan bontja a kitint — az Ar<sub>5</sub> és Cr<sub>4</sub> jelzésű törzsek viszonylag kisebb aktivitásúak.

Táptalajok: A baktériumtörzseket Veldkamp [33] által ajánlott Difco yeast extract táptalajon tenyésztettük, a sugárgomba törzseket pedig zabpehely-agar táptalajon. Az antibiotikum rezisztencia vizsgálathoz a következő összetételű kitinagart használtuk: kitin 0,2—0,3% K<sub>2</sub>HPO<sub>5</sub>, 0,03% és MgSO<sub>4</sub> 0,03% agar-agar (mosott) 2% pH: 6,6—6,8.

A kitint kétféle módon, a májusi cserebogár (*Melolontha melolontha* L.) fedőszárnyaiból vontuk ki lényegében Zechmeister leírása alapján, amelyet Gehring [6] is alkalmazott és a *Saepia officinalis* ún. „saepia csont”-jából Tracey [26] szerint. A natív kitint Bucherer [2] módszerével vittük táptalajba.

Vizsgálatainkhoz kitint azért használtunk ilyen kevés mennyiségben, hogy a kitin kioldási zónát szabadszemmel is minél hamarabb észlelhessük.

Antibiotikumok:

1. *Penicillin* (penicillin-K, ill. -Na — Egy. Gyógyszer- és Tápszergyár, Budapest).
2. *Streptomycin* (dihidrostreptomycinsulfat — Egy. Gyógyszer- és Tápszergyár, Budapest).
3. *Primycin* (Orvostud. Egy. Gyógyszertani Intézet, Debrecen).
4. *Desertomycin* (Orvostud. Egy. Gyógyszertani Intézet, Debrecen).
5. *Grubulin-Na* (Orvostud. Egy. Gyógyszertani Intézet, Debrecen).
6. *Bykomycin* (neomycin-Byk-Sulfat-Gulden Lomberg Chem. Fabr. GmbH Konstanz).
7. *Erythrocyn* (erythromycin lactobionate „Abbott”).
8. *Vionactan* (viomycin-panthotenat-sulfat „CIBA”).
9. *Chloramphenicol* (Gyógyszeripari Kut. Int., Budapest)
10. *Polymyxin*-szulfát B (Gyógyszeripari Kut. Int., Budapest).
11. *Aureomycin* (Gyógyszeripari Kut. Int., Budapest).
12. *Terramycin-tetrán*- (oxytetracyclin HCl Chinoin, Budapest).
13. *Tetracyclin-hydrat* (Chinoin, Budapest).
14. *Kanacyn* (Kanamycin-sulfat Continental Pharma, Bruxelles).

A fenti antibiotikumok a *penicillin* és a *polymyxin* B kivételével sugárgomba eredetűek, köztük találhatók a legutóbbi években előállított *primycin* (Vályi—Nagy, Uri és Szilágyi [30, 31]), *desertomycin* (Uri, Bognár, Békési és Varga [22]), *Grubilin* (Uri [29]) és *Kanamycin* (Umezawa et al. [27]).

A preparátumok néhány oldat kivételével kristályosak voltak, de tájékozódó kísérletek céljából ún. „Biotest” papírkorongokat (Human Oltóanyag-termelő és Kutató Intézet, Budapest) is felhasználtunk.

*A vizsgálat menete:* Némi módosítással az O t t e és K ö h l e r [22] által javasolt lemez-teszt módszert használtuk: 10 cm átmérőjű Petri-csészében 9 ml 50 C° hőmérsékletű táptalajban oszlattuk el 1 ml antibiotikum vizes oldatát. Kivételt képezett a penicillin, amelynél 8 cm átmérőjű Petri-csészéket 4,9 ml táptalajt és 0,1 ml antibiotikum hígított oldatát alkalmaztuk.

Az antibiotikumokból először a készítmény oldási előírásának megfelelően részben desztillált vízben, részben S ö r e n s e n szerinti 6,3 pH-jú foszfát-puffer oldatban (*terramycin*) törzsoldatokat készítettünk. Az aureomycin és tetracyclinhydrát oldódását vizes etanollal segítettük elő — minden esetben antibiotikum mentes, u.o. alkoholtartalmú lemezekkel kontrollálva hogy az alkohol koncentráció egymagában is nem okoz-e gátlást. A törzsoldatokat az eredetileg is már steril oldatok kivételével *Jena G<sub>5</sub>* baktérium-szűrőkön keresztül sterilizáltuk és ezekből — steril körülmények között — még további 4—4 hígítási sorozatot készítettünk. Az egyes fokozatok között 10-szeres koncentráció különbségek voltak. A törzsoldatokból és a hígításokból a fent megadott mennyiségeket vittük be a táptalajba és azt gondosan eloszlattuk. A táptalaj az antibiotikumokból végeredményben milliliterenként a 2. táblázatban feltüntetett mennyiségeket tartalmazta. A megadott határdózisoknál némi módosítással az orvosi mikrobiológiai irodalom által javasolt antibiotikum mennyiségeket tartottuk célszerűnek alkalmazni.

Négy részre osztott Petri-csésze felületére oltókaccsal 4 különböző mikroorganizmust vittünk, amelyeket előzőleg fiziológiás NaCl-oldatban egyenletesen szuszpendáltunk. A Petri-csészéket 21 C° körüli hőmérsékletű termosztátban tartottuk, 48 órás inkubáció után a növekedést már észlelhattük és 72 óra után a kitinkioladási zónák is láthatóvá váltak. Minden esetben kontrollemezeket is oltottunk be.

### Kísérleti rész

Amint az előzőekben említettük, kezdetben 9 különböző mennyiségű antibiotikumot tartalmazó, 7 mm átmérőjű Biotest koronggal végeztünk tájékozódó vizsgálatokat.

Itt néhány esetben a gátlással egyidejűleg serkentést is megfigyeltünk, valamint azt tapasztaltuk, hogy bár az antibiotikum gátolta a baktérium növekedését, a kitináz exoenzim néhány esetben mégis bediffundált a kioltási zónába és a kitint ott feloldotta, pl. a C<sub>10</sub> baktérium esetében a 34 mm-es

1. táblázat

Antibiotikum kioltási zónák mm-ben szervesetlen kitinagar lemezen, 72 óra után

Baktérium törzsek	Penicillin 30 IE	Streptomycin 30 µg	Chlortetracycline 30 µg	Neomycin 100 µg	Terramycin 30 µg	Tetracycline 30 µg	Aureomycin 30 µg	Poly-myxin-B 158 µg	Erythromycin 10 µg
C.	25	9	16	24	—	—	9	22	—
C.	—	—	10	—	—	30	22	25	—
C <sub>1</sub>	—	34	10	27	41	36	27	15	—

streptomycin kioltási zónát jegyeztük fel, valójában azonban a baktérium-szaporodás 40 mm-es körzetben gátolva volt, csupán a kitinaze enzim hatolt be az antibiotikum kioltási zónába. Megemlítjük, hogy a fenti antibiotikumokkal és 2 sulfonamid származékkal hasonló vizsgálatokat végeztünk a *rhizobium*-baktériumokkal is (Kecskés és Manning [19]).

Ezek után az anyag és módszer című fejezetben leírtak szerint folytattuk vizsgálatainkat, amelyek eredményeit az alábbi táblázatban foglaltuk össze

2. táb-

## Gátló hatású koncentrációk

	Penicillin	Streptomycin	Vionactan	Chloramphenicol	Polymyxin-B	Terramycin
A) A vizsgált antibiotikum-koncentrációk ( $\mu\text{g/ml}$ táptalaj) .....						
	0,00012	0,01	0,005	0,005	0,0015	0,005
	0,0012	0,1	0,05	0,05	0,015	0,5
	0,012	1,0	0,5	0,5	0,015	0,5
	0,12	10,0	5,0	5,0	1,5	5,0
	1,2	100,0	50,0	50,0	15,0	50,0
B) Mikrobatörzsek						
C <sub>5</sub> .....	> 1,2	1	5	50	> 15	50
C <sub>7</sub> .....	1,2	0,1	50	> 50	1,5	0,5
C <sub>8</sub> .....	> 1,2	1	> 50	> 50	1,5	5
C <sub>10</sub> .....	> 1,2	1	50	5	1,5	0,5
Ar <sub>5</sub> .....	> 1,2	100	> 50	50	1,5	50
Cr <sub>4</sub> .....	> 1,2	100	50	> 50	1,5	50
Cr <sub>6</sub> .....	> 1,2	10	> 50	50	1,5	50
Cr <sub>15</sub> .....	> 1,2	10	50	50	1,5	5
Str. lavendulae .....	1,2	0,1	0,5	5	15	50
Str. antibioticus .....	> 1,2	1	5	5	15	50
Act. subtropicus .....	> 1,2	1	5	50	15	50
Str. griseus .....	> 1,2	1	5	50	15	> 50
Str. sp. S 6 .....	> 1,2	> 100	> 50	> 50	15	50
Str. sp. Cs 37 .....	> 1,2	10	5	5	> 15	50

## Eredmények, következtetések

Úgy véljük, hogy az általunk alkalmazott dózisok felhasználhatók arra, hogy a kitinbontó talajmikroszervezetek különböző spektrumú antibiotikumokkal szembeni rezisztenciáját megállapíthassuk, vagyis a kitinbontó talajmikroorganizmusok érzékenységét a fenti módon jellemezhetjük.

A leghatásosabbnak mutatkozott a *kanacyn*, *streptomycin* és *terramycin*, amelyek közül a *kanacyn* a 0,05  $\mu\text{g/ml}$  táptalaj mennyiségnél is a vizsgált törzsek nagyobb százalékát gátolja, míg a *streptomycin*nél 1  $\mu\text{g/ml}$  táptalaj esetén is közel hasonló hatást találtunk. A *kanacyn*nal szembeni érzékenységre jellemző, hogy az a *Streptomyces lavendulae* és az *Actinomyces subtropicus* általunk vizsgált törzseit még 0,005  $\mu\text{g/ml}$  táptalaj dózisban is gátolta. Mind a baktériumok, mind a sugárgombák a *grubilin*nal és a *penicillin*nel szemben voltak legkevésbé érzékenyek, a vizsgált törzsek közül csak két törzs nem növekedett 1,2  $\mu\text{g penicillin/ml}$  táptalajban és valamennyi törzs növekedett a *grubilin* 50  $\mu\text{g/ml}$  táptalaj koncentrációnál.

Vizsgálataink alapján megkíséreltük az általunk felhasznált antibiotikumokat csoportosítani a tanulmányozott mikroorganizmusokkal szembeni hatások alapján:

Általában nagyobb hatóspektrumúnak bizonyultak a *kanacyn*, *streptomycin*, *terramycin*, *polymyxin-B*, *vionactan*, *chloramphenicol*, *erythromycin*, *desertomycin*, *aureomycin*, *primycin*, *penicillin*, *grubilin*.

A megvizsgált antibiotikumok a *penicillin*, *streptomycin* és *polymyxin B*

lúzat

( $\mu\text{g/ml}$ )

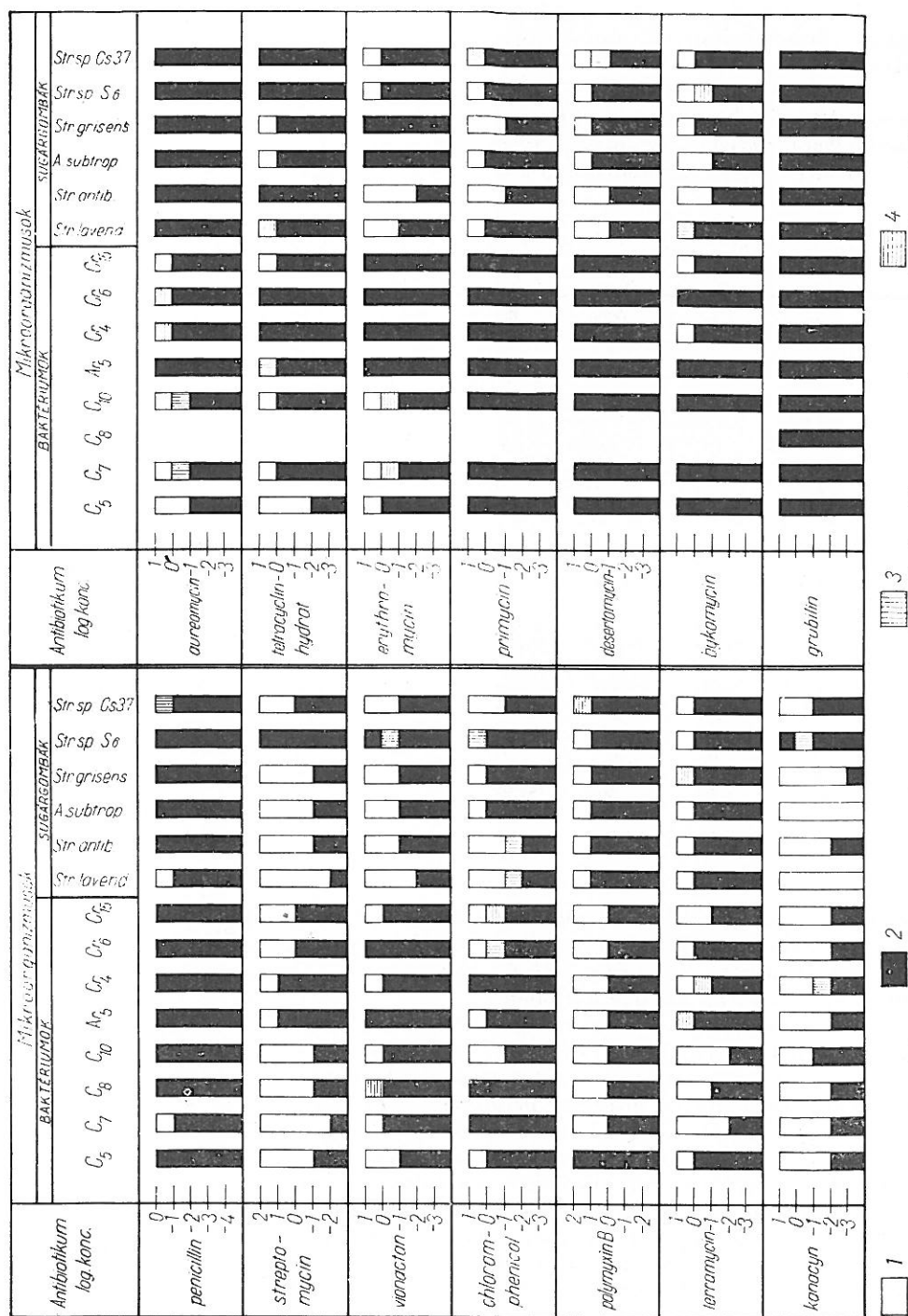
Kanacyn	Aureomycin	Tetracyclin-hydrat.	Erythromycin	Primycin	Desertomycin	Bykomycin	Grubilin
0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005
0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0
0,5	5	0,5	50	> 50	> 50	> 50	> 50
0,5	50	50	50	> 50	> 50	> 50	> 50
0,5	—	—	—	—	—	—	—
5	50	50	50	> 50	> 50	> 50	> 50
0,5	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50	50	> 50
5	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50
0,5	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50	50	> 50
0,5	50	50	50	> 50	> 50	50	> 50
> 0,005	> 50	> 50	5	> 50	5	50	> 50
0,5	> 50	> 50	0,5	5	5	5	> 50
> 0,005	> 50	50	> 50	50	50	5	> 50
0,05	> 50	50	> 50	5	50	50	> 50
> 50	> 50	> 50	50	50	50	50	> 50
5	> 50	> 50	50	> 50	50	50	> 50

kivételével közvetlenül is összehasonlíthatók, mivel azoknál azonos anyagmennyiségeket használtunk, így a *kanacyn*, *terramycin*, *vionactan*, *chloramphenicol*, *erythromycin*, *tetracyclin-hydrat*, *bykomycin*, *desertomycin*, *aureomycin*, *primycin*, *penicillin*, *grubilin* esetében.

A baktériumokkal szembeni nagyobb hatás alapján a következő csökkenő sorrendet állíthatjuk fel: *kanacyn*, *streptomycin*, *terramycin*, *polymyxin B*, *aureomycin*, *tetracyclin-hydrat*, *chloramphenicol*, *vionactan*, *erythromycin* — *bykomycin*, *desertomycin*, *grubilin*, *primycin*, *penicillin*.

A sugárgombákkal szemben *kanacyn*, *streptomycin*, *vionactan*, *desertomycin*, *bykomycin*, *primycin*, *chloramphenicol*, *erythromycin*, *terramycin* — *polymyxin B*, *tetracyclin-hydrat*, *penicillin*, *aureomycin*, *grubilin*.

Ha szemügyre vesszük a táblázatot, kitűnik, hogy a magasabbrendű növények rhizoszférajából származó baktériumtörzsek nagyobb ellenállóképességet tanúsítottak az antibiotikumokkal szemben, mint a különböző talajokból izolált baktériumok vagy sugárgombák. A baktériumok közül az akác rhizoszférajából izolált Ar<sub>5</sub> jelzésű törzs volt legkevésbé érzékeny nagy-



I. ábra Antibiotikumok hatása a kintibontó mikroorganizmusokra. A függőleges tengely az antibiotikumok logaritmus koncentrációja. 1: gátlás, 2: növekedés, kintibontás, 3: gyenge kintibontás, 4: növekedés szemmel látható kintibontás nélkül



számú antibiotikum elég erős dózisaival szemben és a legnagyobb érzékenységet a kerti talajból izolált  $C_7$  törzs mutatta. A sugárgombák közül a *Streptomyces Sp.* ( $S_6$ ) volt a legrezisztensebb, a *Streptomyces lavendulae* pedig igen érzékenynek bizonyult.

Az alkalmazott kitin táptalajon  $21^\circ\text{C}$ -os hőmérsékleten is jól nőttek a mikroorganizmusok és a telepeik körüli kitinkioladási zónák segítségével, az adott higítási értékeknél, megállapíthattuk, hogy a szervezet bontja-e a kitint vagy sem. Amint a táblázat jelmagyarázata is mutatja, a mikroorganizmusok antibiotikumokkal szembeni érzékenységének elbírálásakor a növekedést és a kitinbontást egyaránt figyelembe vettük. Az esetek túlnyomó többségében jó növekedés és aktív kitinbontás volt, elszórtan találkoztunk gyenge növekedéssel, aktív kitinbontással, jó növekedéssel, gyenge kitinbontással és végül néhány esetben volt gyenge növekedés, szemmel látható kitinoldás nélkül. 13 esettől eltekintve, 176 esetben a kitinoldás egybeesett a növekedés határával.

Anélkül, hogy túlzott következtetéseket vonnánk le vizsgálatainkból, adataink bizonyítják, hogy elég nagyszámú különböző hatóspektrumú antibiotikum magas koncentrációinál is, a vizsgált kitinbontó mikroorganizmusok jelentős számban voltak képesek növekedni és aktívan bontani a kitint. Még a legerősebben ható *kanacyn*  $50\text{ }\mu\text{g/ml}$  táptalaj dózisánál is volt egy törzs, amely aktívan működött.

Itt kell megemlítenem, hogy a kitinbontó mikroszervezeteken kívül (Kecskés [17]) az antibiotikum érzékenységi vizsgálatokat más kitint nem bontó talaj mikroszervezetekre is kiterjesztettük: a rhizobium baktériumokra (Kecskés és Manninger [20]) és a cukorrépa rhizoszféra baktériumokra (Gyurkó, Kecskés és Manninger [8]). Szükségesnek tartjuk megjegyezni, hogy ezen eredmények többek közt alátámasztják azt a fenti megállapításunkat is, hogy a rhizoszféra baktériumok (más talajmikroszervezetekhez viszonyítva) meglehetősen nagyfokú antibiotikum rezisztenciával rendelkeznek.

Köszönetemet fejezem ki a Gyógyszeripari Kutató Intézetnek (Magyar Károly) a chloramphenicolért, a polymyxin B-ért és az aureomycinért; a debreceni Orvostudományi Egyetem Gyógyszertani Intézetének (Uri József) a primycinért, desertomycinért, grubilinért; valamint a Hajdusági Gyógyszergyárnak (Csobán György); — Gyurkó P., Szabó I. és Szegi J. kollegáimnak a törzsek átengedéséért.

### Összefoglalás

Különböző talajokból, az akác és a cukorrépa rhizoszférájából izolált 14 kitinbontó mikroorganizmus (baktériumok és sugárgombák) különböző hatóspektrumú antibiotikumokkal (*penicillin*, *streptomycin*, *vionactan*, *chloramphenicol*, *polymyxin B*, *terramycin*, *kanacyn*, *aureomycin*, *tetracyclin-hydrat*, *erythromycin*, *primycin*, *desertomycin*, *bykomycin*, *grubilin*) szembeni érzékenységét tanulmányoztuk szervesen kitinagar táptalajon, a növekedés és kitinbontó tevékenység alapján.

Az eredményeket táblázatban közöltük. Megállapítottuk az antibiotikumok hatékonysági sorrendjét. Elég nagyszámú, különböző hatóspektrumú antibiotikum magas koncentrációinál is a vizsgált kitinbontó mikroorganizmusok jelentős száma volt képes növekedni és aktívan kitint bontani. Néhány esettől eltekintve a kitinbontás egybeesett a növekedés határával.

A magasabbrendű növények rhizoszférájából származó, általunk megvizsgált baktériumtörzsek nagyobb rezisztenciát tanúsítottak az antibiotikumokkal szemben, mint a különböző talajokból izolált baktériumok vagy sugárgombák. — Utóbbi eredményeinket, kitint nem bontó talaj és rhizoszféra baktériumokkal végzett későbbi kísérleteink is megerősítették.

Érkezett: 1960. július 15.

### Irodalom

- [1] Benecke, W.: *Bacillus chitinovor*, einen Chitin zersetzenden Spaltpilz. Bot. Ztg. I. 228 1905.
- [2] Bucherer, H.: Über den mikrobiellen Chitinabbau. Zbl. Bakt. II. Abt. **93**, 12, 1951.
- [3] Campbell, L. L. Jr. & Williams, O. B.: A study of chitin decomposing microorganisms of marine origin. J. Gen. Microbiol. **5**, 894, 1951.
- [4] Clarke, P. H. & Tracey, M. V.: The occurrence of chitinase in some bacteria. J. Gen. Microbiol. **14**, 188, 1956.
- [5] Gehring, F.: Untersuchungen über die Keimung der Champignonsporen und die Wirkung von Chitinbakterien auf Basidiensporen mit unbekannten Keimungsbedingungen. Angew. Bot. **27**, 97—105, 1953.
- [6] Gehring, F.: Beitrag zum Chitinabbau durch Mikroorganismen. Zbl. Bakt. Abt. II. **108**, 232, 1954.
- [7] Gyurkó, P.: Die antagonistische Wirkung der Rhizosphären-Bakterien der Zuckerrübe auf die Bodenbakterien. Acta Agron. Hung. **9**, 175, 1959.
- [8] Gyurkó, P., Kecskés, M. & Manninger, E.: Csúszóvízvíz'noszty pocsvennűh mikroorganizmov k antibiotikum. III. K voproszu o rezisztentnoszty rizoszférnűh bakterij szaharnoj szveklü k antibiotikum. Mikrobiologija. (Közlés alatt.)
- [9] Huber, J.: Untersuchungen zur Physiologie insektenfressender Pilze. Arch. Mikrobiol. **29**, 236, 1958.
- [10] Jeuniaux, Ch.: Mise en évidence d'une flore bactérienne chitinolytique dans le tube digestif de l'escargot (*Helix pomatia* L.). Arch. Internat. Physiol. **58**, 350, 1950.
- [11] Jeuniaux, Ch.: Production d'une exochitinase par des bactéries chitinolytiques isolées du contenu intestinal de l'escargot. Arch. Internat. Physiol. **58**, 352, 1950.
- [12] Jeuniaux, Ch.: Recherche de la chitinase dans les tissus glandulaires digestifs de l'escargot (*Helix pomatia*). Arch. Internat. Physiol. **58**, 354, 1950.
- [13] Jeuniaux, Ch.: Sur la chitinase et la flore bactérienne intestinale des mollusques gastéropodes. Mém. Acad. Roy. Belg. Cl. Sci. **28**, 1954.
- [14] Jeuniaux, Ch.: De quelques tests d'homogénéité appliqués à une solution de chitinase microbienne purifiée. Arch. Internat. Physiol. **65**, 135, 1957.
- [15] Jeuniaux, Ch. & Amanieu, M.: Mise en évidence d'une chitinase dans le liquide exuvial de *Bombyx mori*. Arch. Internat. Physiol. **63**, 94, 1955.
- [16] Kecskés, M.: Chitin Breakdown of Rhizosphere Bacteria. Nature. **188**, 251, 1960.
- [17] Kecskés, M.: Talajmikroorganizmusok antibiotikum érzékenysége. IV. Néhány antibiotikum hatása a chitinbontó talajmikroorganizmusok növekedésére és chitinbontó tevékenységére. Közlésre beküldve, 1960.
- [18] Kecskés, M.: Kítnbontó mikroorganizmusok élettani tanulmánya. Kandidátusi disszertáció. Sopron—Budapest, 1960.
- [19] Kecskés, M. & Manninger, E.: Prüfung der Resistenz von Rhizobien-Stämmen gegen Antibiotika und Sulfonamide. Naturwiss. **47**, 162, 1960.
- [20] Kecskés, M. & Manninger, E.: Sensitivity of soil microorganisms to Antibiotics. II. Effect of various antibiotics on the growth of Rhizobia. Canad. J. Bacteriol. (Közlés alatt).
- [21] Kopp, F. I. & Makrianovics, E. M.: O razrusajuesih hitin bakterijah v cernom morje. Dokl. AN SSSR **75**, 859, 1950.
- [22] Ote, H. J. & Köhler, W.: Die Praxis der Resistenz und Spiegelbestimmung zur antibiotischen Therapie. Fischer, Jena, 1958.
- [23] Reynolds, D. M.: Extracellular chitinase from a *Streptomyces* sp. J. Gen. Microbiol. **11**, 150, 1954.
- [24] Sreenivasan, A.: A new species of marine chitin digesting bacterium. Current Sci. **24**, 270, 1955.



- [25] Szabó, I., Marton, M. & Szabolcs, I.: Adatok a *Streptomyces griseus* Waksman et al. ökológiájának ismeretéhez. *Agrokémia és Talajtan*. **7**. 163. 1958.
- [26] Tracey, M. V.; In Peach, K. & Tracey, M. V.: *Modern Methods of Plant Analysis*. Vol. II. Springer. Berlin. 1955.
- [27] Umezawa, H., Veda, M., Maeda, K. et al.: Production and isolation of a new antibiotic kanamycin. *J. Antibiot. Ser. A*. **10**. 181. 1957.
- [28] Uri, J., Bognár, R., Békési, I. & Varga, B.: Desertomyacin, a new crystalline antibiotic with antibacterial and cytostatic action. *Nature*. **182**. 401. 1958.
- [29] Uri, J.: Emberpathogen gombák az antibioticum kutatásban. III. Az egyes actinomyceta eredetű emberpathogen gombák ellen ható antibioticumok. *MTA Biol. Orvostud. Oszt. Közl.* **10**. 333. 1951.
- [30] Vályi-Nagy, T., Uri, J. & Szilágyi, I.: Primycin, egy új actinomyces eredetű antibiotikum. *MTA Biol. Orvostud. Oszt. Közl.* **7**. 369. 1956.
- [31] Vályi-Nagy, T., Uri, J. & Szilágyi, I.: Das Primycin, ein neues von Actinomycesen stammendes Antibiotikum. *Die Pharmazie*. **11**. 304. 1956.
- [32] Veldkamp, H.: Aerobic decomposition of chitin by microorganisms. *Nature*. **169**. 500. 1952.
- [33] Veldkamp, H.: A study of the aerobic decomposition of chitin by microorganisms. *Med. Landb. Hoogesch. Wageningen*, **55**. 127. 1955.

### ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ПОЧВЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ К АНТИБИОТИКАМ I.

#### ВЛИЯНИЕ АНТИБИОТИКОВ НА РОСТ И НА ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ХИТИН-РАЗРУШАЮЩИХ ПОЧВЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

М. Кечкеш

Научно-исследовательский Институт Почвоведения и Агрохимии АН Венгрии, Будапешт

#### Резюме

Автор исследовал чувствительность 14 хитино-разрушающих почвенных микроорганизмов (бактерий, лучистых грибов), выделенных из различных почв (из-под леса, сада и пахотной земли), а также из ризосферы акации и сахарной свеклы, против различных антибиотиков. Микроорганизмы выращивались и изучались на хитин — агаровой питательной среде.

Хитин был выделен из крыльев *Melolontha-melolontha* L. в основном по методу Zechmeister который применялся также Gehring. Хитин был перенесен в питательную среду по методу Bucherer. В питательной среде хитин был единственным источником углерода и азота. Изучали следующие антибиотики: пенициллин, стрептомицин, вионактан, хлорамфеникол, полимиксин Б, тетрациклин, канамицин, ауреомицин, тетрациклин-гидрат, эритромицин, примидин, дезертомицин, бикомицин, грубилин. Из антибиотиков были применены такие дозы, которые используются в медицинской микробиологии с небольшой модификацией по предложению Otte и Köhler.

Результаты приведены в таблицах. Установили ряд действий антибиотиков. Значительная часть изученных хитин — разрушающих организмов оказалась способной расти и активно разрушать хитин даже в случае довольно высоких концентраций большого числа антибиотиков. Не считая некоторые отклонения, разрушение хитина происходило параллельно с ростом микроорганизмов.

Штаммы бактерий, изолированных из ризосферы высших растений, имели большую устойчивость против антибиотиков, чем бактерии или лучистые грибы, изолированные из различных почв. Эти выводы были подкреплены нашими дальнейшими опытами, проведенными с бактериями не разрушающими хитин, выделенными из почвы или ризосферы.

Табл. 1. В зоне разрушения от антибиотиков в мм на неорганической хитин — агаровой пластинке через 72 часа.

Табл. 2. Тормозящие концентрации ( $\mu\text{г}/\text{мл}$ ). А) Изученные концентрации антибиотиков (в  $\mu\text{г}/\text{мл}$  питательной среды). В) Штаммы микроорганизмов.

Рис. 1. Влияние антибиотиков на хитин-разрушающие микроорганизмы. На ординате: логарифм концентрации антибиотиков. 1: торможение. 2: рост и разрушение хитина. 3: слабое разрушение хитина. 4: рост без видимого на глаз разрушения хитина.

### Sensitivity of Soil Microorganisms to Antibiotics I.

#### The Effects of Antibiotics on Growth and Chitin-Decomposing Activity of Chitin-Decomposing Soil Microorganisms

M. KECSKÉS

Research Institute for Soil Science and Agricultural Chemistry of the  
Hungarian Academy of Sciences, Budapest

#### Summary

Fourteen microorganisms (bacteria and Actinomycetes) have been isolated from the rhizospheres of acacia and sugar beet grown in different soils (forest, garden and field). Their sensitivity to antibiotics of different action spectra was studied on a chitin-agar medium containing inorganic salts.

The method of Zechmeister, also used by Gehring, was applied to the extraction of chitin from covering wings of *Melolontha melolontha* L. The chitin medium was prepared according to Bucherer. Chitin was the only N- and C-source present in the nutrient medium.

The following antibiotics were applied: penicillin, streptomycin, vionactan, chloramphenicol, polymyxin B, terramycin, kanacyn, aureomycin, tetracyclinehydrate, erythromycin, primycin, desertomycin, bykomycin and grubilin. The applied doses were those used in human bacteriology (cf. Otte and Köhler).

Results are summarized in two tables. The decreasing order of activity of the antibiotics was established. A remarkable number of the isolated chitin-degrading microorganisms showed significant activity even in the presence of the highest doses of several antibiotics of different types. Growth and chitin degradation were generally affected in the same way.

The strains of bacteria isolated from the rhizosphere of higher plants proved to be more resistant to the antibiotics than the bacteria and *Actinomycetes* isolated from soil. The same difference in sensitivity between soil- and rhizosphere-microorganisms was also found in further unpublished studies, in the case of some other, not chitin-degrading microorganisms.

*Table 1.* The diameter of the inhibition zone after 72 hours with different antibiotics on the chitin-agar medium containing inorganic salts.

*Table 2.* Inhibiting concentrations of the antibiotics ( $\mu\text{g}$  per ml). A) Concentration of the antibiotic B) Microorganism.

*Fig. 1.* The effect of antibiotics on microorganisms. Ordinate: logarithmic concentration of the antibiotic. 1: inhibition, 2: growth and chitin degradation, 3: slight degradation of chitin, 4: growth without apparent chitin degradation.